

ВІДГУК

офіційного опонента **Пашинської Влади Анатоліївни**, доктора фіз.-мат. наук, старшого наукового співробітника, старшого наукового співробітника відділу молекулярної біофізики
Фізико-технічного інституту низьких температур
ім. Б. І. Веркіна НАН України
на дисертаційну роботу

Монастирського Григорія Павловича

«Ефекти та механізми структурних перебудов в модельних та реальних мембранах під дією наночастинок MoS_2 та WS_2 »,

подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії

в галузі знань 10 - Природничі науки

зі спеціальності 104 - Фізика та астрономія

Актуальність тематики дисертаційної роботи

Дисертаційна робота «Ефекти та механізми структурних перебудов в модельних та реальних мембранах під дією наночастинок MoS_2 та WS_2 » Монастирського Г. П. присвячена актуальній проблемі сучасної нанобіофізики, яка полягає у встановленні фізичних ефектів впливу наночастинок дихальогенідів перехідних металів (MoS_2 , WS_2) на біологічні структури, зокрема на клітинні мембрани. Практичне значення та актуальність означеної наукової проблеми пов'язані з перспективністю застосування таких 2D наночастинок у біосенсоричі, у створенні наноструктур для направленої доставки ліків в організмі, у біокаталізі та інших біомедичних нанотехнологіях. Унікальні фізико-хімічні властивості та біосумісність вищезазначених 2D наноматеріалів дають можливість використовувати їх як платформи для доставки високотоксичних протипухлинних ліків та у фототермічній терапії пухлин, що, зокрема, стосується наночастинок MoS_2 . Треба зазначити, що клітинна мембрана виконує бар'єрну функцію, забезпечуючи клітинний гомеостаз та першою взаємодіючи з різноманітними екзогенними факторами та частинками (включно з наночастинками і ліками), та відповідає за селективний транспорт речовин в клітину. Саме тому надзвичайно важливо з'ясувати фізичні механізми взаємодії наночастинок з біомембранами та її компонентами, зокрема з мембранними фосфоліпідами, та визначити, як ці взаємодії впливають на морфологію та функціональні властивості мембран. Все вищезазначене дозволяє стверджувати, що тема дисертації здобувача Монастирського Г. П. є актуальною та науково значимою.

Новизна та достовірність отриманих наукових результатів

Наукові дослідження в рамках дисертаційної роботи «Ефекти та механізми структурних перебудов в модельних та реальних мембранах під дією наночастинок MoS_2 та WS_2 » проводились на сучасному фізичному обладнанні з застосуванням комплексу ефективних

спектральних методів, включно з інфрачервоною Фур'є-спектроскопією, спектроскопією комбінаційного розсіювання, люмінесцентною спектроскопією, а також найсучаснішими методами оптичної та скануючої електронної мікроскопії, енергодисперсійного аналізу та динамічного розсіювання світла. Використання комплексу взаємодоповнюючих експериментальних методів задля досягнення мети дисертаційного дослідження, що полягала у визначенні спектральних і морфологічних особливостей та молекулярних механізмів впливу наночастинок MoS_2 і WS_2 на мембрани, є однією з позитивних характеристик представленої дисертації та свідчить про оволодіння здобувачем широким спектром сучасних методів фізичних досліджень. Застосування цих достовірних методів забезпечило й достовірність отриманих в роботі результатів та спонукало здобувача творчо вдосконалювати методики проведення експериментів для вирішення завдань дослідження. Варто зазначити, що в роботі Монастирським Г. П. апробовано новітні методики приготування зразків ліпосом з наночастинками MoS_2 та WS_2 та пухлинних клітин культури LLC за умови деадгезивного росту для отримання зображень методом скануючої електронної мікроскопії. Серед нових та найбільш значимих для сучасної нанобіофізики результатів дисертаційної роботи, на мій погляд, слід відзначити результати спектральних досліджень систем, що містили ліпосоми та наночастинки MoS_2 та WS_2 . Отримані дані дозволили завдяки аналізу змін характеристичних спектральних смуг мембранного фосфоліпіду DOPC, що спостерігалися під впливом взаємодії з наночастинками, запропонувати молекулярні механізми взаємодії наночастинок з фосфоліпідними компонентами мембран, виділяючи функціональні групи фосфоліпіду, які відповідальні за нековалентну взаємодію з компонентами наночастинок MoS_2 та WS_2 .

Практична цінність дисертації зумовлена тим, що запропоновані в роботі підходи до виявлення спектроскопічних маркерів взаємодії наночастинок з ліпосомами можуть використовуватись для практичної розробки та контролю створення наносистем для трансмембранної доставки ліків. Крім того, результати дисертації з візуалізації ракових клітин LLC та їх взаємодії з наночастинками за допомогою скануючої електронної мікроскопії та апробовані методики пробопідготовки клітин для таких досліджень можуть бути безпосередньо застосовані в біомедичній практиці при дослідженні ракових тканин пацієнтів з діагностичною метою та з метою вибору стратегій лікування.

Повнота викладення результатів дисертації в опублікованих наукових працях за темою дисертації

Основні результати дисертаційної роботи Монастирського Г. П. досить повно висвітлені в наукових працях, що наведені в списку публікацій за темою дисертації. Список публікацій містить посилання на 6 наукових праць, включно з 4 статтями в авторитетних періодичних

наукових виданнях, проіндексованих у базі даних Scopus (дві статті вийшли в наукових виданнях, що віднесені до Q2 відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank), однією статтею, що вийшла в матеріалах міжнародної конференції, та одним препринтом статті. Наявність зазначеної кількості публікацій за участю здобувача в високореєтингових міжнародних наукових виданнях свідчить про високу оцінку представлених в них результатів міжнародною науковою спільнотою, а також повністю відповідає вимогам щодо публікації результатів дисертацій здобувачів наукового ступеня доктора філософії, що містяться в постанові Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 р. № 44. Результати дисертаційної роботи було також представлено та обговорено на 10 міжнародних конференціях.

Дисертаційна робота виконана у відділі фізики біологічних систем Інституту фізики НАН України під керівництвом доктора фіз.-мат. наук, професора Г. І. Довбешко. **Особистий внесок здобувача** Монастирського Г. П. в опубліковані наукові праці полягає в пробопідготовці експериментальних зразків для електронної мікроскопії, проведенні експериментальних досліджень методами оптичної та скануючої електронної мікроскопії, а також енергодисперсійної спектроскопії. Здобувач брав активну участь в постановці задач та виборі методів дослідження, в інтерпретації та аналізі результатів, написанні статей за результатами досліджень.

Оцінка основного змісту, структури та оформлення дисертації

Дисертація здобувача Монастирського містить вступ, п'ять розділів та висновки. Повний обсяг дисертації складає 169 стор., робота містить 59 рисунки, 3 таблиці. Список використаних літературних джерел містить 169 найменувань на 16 сторінках.

У вступі дисертації обґрунтовано актуальність теми дисертації, наведено мету та завдання дослідження, зв'язок дисертації з тематикою роботи Інституту фізики НАН України, описано методи дослідження, новизну та практичну цінність отриманих результатів, особистий внесок здобувача в опубліковані наукові праці, що висвітлюють результати роботи, наведено список публікацій за результатами дисертаційного дослідження.

Перший розділ присвячено огляду літератури за темою дисертації, а саме: детально описані структура та функції біологічних мембран, охарактеризовано ліпосоми як наноструктури для доставки ліків та зручний інструмент досліджень мембранних структур, описано наночастинки дихальогенідів перехідних металів та їх потенційний вплив на структурні та функціональні властивості мембранних структур.

У другому розділі дисертації детально описано ряд методів досліджень, що застосовувались в роботі, а саме: методи ІЧ Фур'є-спектроскопії, спектроскопії комбінаційного розсіювання, люмінесцентної спектроскопії, оптичної мікроскопії, скануючої електронної мікроскопії та енергодисперсної рентгенівської спектроскопії.

У третьому розділі представлено результати досліджень структури та фізичних властивостей порошків MoS_2 та WS_2 , матеріал яких використовувався в подальших дослідженнях взаємодії наночастинок MoS_2 та WS_2 з модельними та реальними клітинними мембранами.

Четвертий розділ дисертації присвячений викладенню результатів спектральних та мікроскопічних досліджень взаємодії наночастинок MoS_2 та WS_2 з ліпосомами.

У п'ятому розділі описуються дослідження морфологічних змін пухлинних клітин карциноми легень Льюїса (LCC) під впливом взаємодії з наночастинами MoS_2 та WS_2 .

Розділ дисертації **Висновки** містить підсумки та основні висновки роботи.

Дисертація написана українською мовою з застосуванням сучасної наукової термінології, результати досліджень викладено з логічною послідовністю, робота складає враження цілісної та закінченої наукової праці. Разом з тим, треба зазначити наявність ряду зауважень до оформлення тексту роботи (деякі наводяться нижче) згідно Вимог до оформлення дисертації, що затверджені Наказом МОН України від 12.10.2017 №40. Наприклад, анотація дисертації Монастирського Г. П. не містить формальної інформації про дисертацію, як це рекомендовано в п. 2 та Додатку 2 цих Вимог, також відсутній список публікацій здобувача за темою дисертації після ключових слів анотації. При цьому список публікацій здобувача, який в дисертації Монастирського розміщений після Вступу, не містить посилань, що свідчать про апробацію результатів (як цього вимагає п. 4 Вимог), хоча результати дисертації, як зазначено у Вступі, пройшли апробацію та доповідалися на 10 міжнародних конференціях. Крім того, в тексті дисертації Зміст чомусь іде після Вступу.

Зауваження, питання та рекомендації до дисертаційної роботи

При загальному позитивному враженні від дисертаційної роботи Монастирського Г. П. та отриманих в дослідженні наукових результатів, уважне вивчення тексту роботи дозволило сформулювати ряд зауважень, які наводяться нижче, та зазначити низку тверджень, які потребують уточнення.

Зауваження та запитання змістовного характеру

1. Беручи до уваги, що під *об'єктом наукового дослідження* (як категорії наукового процесу) зазвичай розуміють явище або процес, що досліджується, та той факт, що *об'єкт* є більш широким поняттям ніж *предмет дослідження*, вважаю, що формулювання *об'єкту дослідження* в дисертації є неточним.
2. Серед методів дослідження у Вступі дисертації вказується квантово-хімічне моделювання, але незрозуміло, чому методи квантово-хімічного моделювання не згадуються в Розділі 2 «Методи досліджень», а результати моделювання не викладено в дисертації на рівні з експериментальними результатами (є тільки поодинокі згадки результатів моделювання в обговоренні в Розділі 4).

3. Загальна хімічна формула фосфоліпіда на стор. 21 представлена неправильно і не відповідає загальній структурі фосфоліпіду, що показана на рис. 3 (стор. 20).
4. Незрозуміло, яка молекула зображена на рис. 3.2 з підписом «Структура холестеролу», і як ця молекула, що має 3 атоми кисню в структурі, співвідноситься з формулою холестеролу $C_{27}H_{46}O$, що наведена після рисунку на стор. 22.
5. Залишилося незрозумілим, що вкладав автор у термін «короткочасні взаємодії» в твердженні «... збирання ліпідів здійснюється через короткочасні взаємодії, включаючи електростатичні сили та сили Ван-дер-Ваальса» (стор. 33).
6. Хоча Розділ 1 містить огляд літератури, з першого висновку в цьому розділі неясно, чи здобувач бере до уваги якісь інші фізичні взаємодії, що забезпечують структурну організацію мембран, окрім водневих зв'язків та електростатичних сил (наприклад, гідрофобні взаємодії та інші).
7. На стор. 91 (Розділ 3) дисертації здобувач пише, що «дослідження дозволили встановити, що типові товщини пластин MoS_2 та WS_2 складають 20–40 нм», хоча вище по тексту в п. 3.1 така товщина пластин за даними СЕМ була показана тільки для частинок WS_2 .
8. Пункт 4.1.1. (Розділ 4) дисертації присвячений дослідженню ліпосом з наночастинками методом динамічного розсіювання світла. Незрозуміло, чому цей ефективний метод не описаний в Розділі 2 «Методи досліджень».
9. На стор. 123 (Розділ 4) описуються мікроскопічні дослідження ліпосом зі сфінгомієліну з холестеролом. Незрозуміло з тексту, який склад цих ліпосом та скільки яких компонентів бралось для їх приготування.
10. Не зовсім зрозумілим для мене виявився зв'язок пункту 4.4 «Аналіз механізмів взаємодії», в якому містяться міркування про взаємодію молекул фосфоліпідів (або частин фосфоліпідних молекул) та наночастинок, з попередніми пунктами Розділу 4. Пункт 4.4 починається реченням: «Адсорбція фосфоліпідів на бездефектних ділянках дисульфідів перехідних металів (WS_2 , MoS_2) є переважно нековалентною». З цього речення не зрозуміло, чи йдеться про абсорбцію окремих молекул фосфоліпідів на поверхні частинок WS_2 та MoS_2 , чи про взаємодію з цими частинками фосфоліпідів, організованих в ліпосоми (про що йшлося в попередніх пунктах Розділу 4). Після вивчення матеріалів Розділу 4 у мене залишилось запитання щодо співвідношення розмірів ліпосом та частинок WS_2 та MoS_2 у системах, що досліджувались здобувачем (Що на чому адсорбується? Чи дозволяють розміри частинок WS_2 та MoS_2 включатися в ліпосоми повністю, поглинатися?).
11. В Розділі 5 дуже цікавим є зображення клітин карциноми Льюїса, інкубованих з наночастинками WS_2 в адгезивних умовах, на рис. 58, де центральна клітина має практично

прямокутну форму та великий розмір. На попередніх зображеннях цього розділу форма LLC пухлиних клітин, щоправда, в деадгезивному стані, була переважно сферичною (на рис. 58 також є клітини сферичної форми). На рис. 59 форма однієї з LLC клітин є близькою до трикутника, хоча поряд також є сферична клітина. Незрозуміло, чому здобувач не обговорює в тексті наявність на зображеннях LLC клітин з кардинальною зміною форми та розміру в присутності наночастинок WS_2 в адгезивних умовах, та з чим можуть бути пов'язані такі морфологічні зміни, які, на мій погляд, будуть значно впливати на функціональну активність цих клітин.

Граматичні та стилістичні зауваження до тексту

- В багатьох місцях по тексту та в списку літератури спостерігається неправильне застосування або відсутність необхідних розділових знаків, наприклад, відсутність крапок в кінці речень на стор. 7, стор. 8, стор. 18, стор. 20, 25, 28, стор. 52 та інших місцях.
- На стор. 2, останній абзац – маємо неправильний відмінок слова «спектроскопія»; на стор. 3, перший абзац – невідповідне число дієслова «викликає».
- В списку публікацій, що наведено на стор. 13 в пункті 6 зазначена стаття з авторами Andrii Bodnaruk, Grygorii Monastyrskyi, Valerii Bykov, Maryna Olenchuk, Galyna Dovbeshko, при цьому, якщо скористатись посиланням doi для цієї роботи, ми знаходимо цю статтю з іншою послідовністю авторів Marina Olenchuk; Galina Dovbeshko; Andrii Bodnaruk; Grygoryi Monastyrskyi; Valerii Bykov.
- Умовні позначки всіх методів на стор. 16 надані в англійській аббревіатурі, а скануюча електронна мікроскопія представлена в українській аббревіатурі, це заплутує читача.
- Рис. 1 (стор. 16) має назву «Модельне зображення мембрани», при цьому там зображена клітина в цілому, а деякі процеси в клітині зображені помилково (наприклад, екзоцитоз та ендоцитоз – це протилежні процеси, а вони позначені однонаправленими стрілками).
- Підпис до рис. 3 (стор. 20) відірваний від рисунка і знаходиться на стор. 21.
- У підписі до рис. 14 (стор. 52) «Ілюстрація ІЧ і Раманівської спектроскопії та правил відбору» не зрозуміло, про який відбір йдеться.
- Формули та рівняння в Розділі 2, що описують теоретичні основи спектроскопічних методів, не пронумеровані (хоча це – пряма вимога щодо оформлення наукових робіт), тому дуже важко слідкувати за описом математичних перетворень в тексті.
- У підписі до рис. 49 (стор. 131) та рис. 57 (стор. 143) відсутні пояснення щодо літер a, b, c (та a, б, в), якими позначені три різних фото на цих рисунках.

Наведені зауваження не знижують загальної наукової цінності результатів дисертаційного дослідження, але можуть бути враховані здобувачем при подальшому розвитку теми та підготовці

наукових праць. В якості загальної рекомендації щодо подальших досліджень за темою дисертації я б порадила здобувачеві поглиблювати вивчення фізичних причин морфологічних та функціональних змін в мембранних структурах під впливом наночастинок дихалкогенідів перехідних металів, намагаючись з'ясувати причинно-наслідкові зв'язки між фізичними ефектами і структурними змінами, що спостерігалися.

Загальний висновок офіційного опонента

Беручи до уваги наукову цінність проведених в рамках дисертаційної роботи досліджень, з урахуванням актуальності теми роботи, наукової новизни, достовірності та практичного значення отриманих результатів, вважаю, що дисертаційна робота Монастирського Г. П. «Ефекти та механізми структурних перебудов в модельних та реальних мембранах під дією наночастинок MoS_2 та WS_2 » відповідає вимогам, що викладені в постанові Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 р. № 44 «Про затвердження порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціальної вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», зі змінами, внесеними постановами КМ № 341 від 21.03.2022 р., № 502 від 19.05.2023, № 507 від 03.05.2024 р., а її автор Монастирський Григорій Павлович заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 104 - Фізика та астрономія.

Офіційний опонент:

старший науковий співробітник
відділу молекулярної біофізики
Фізико-технічного інституту низьких температур
ім. Б. І. Веркіна НАН України
доктор фізико-математичних наук
старший науковий співробітник



Влада Анатоліївна Пашинська



Особисте підпис гр. *Пашинської В. А.*
ЗАСВІДЧУЮ
Учений секретар ФТІНТ
Б.І. Веркіна НАН України
кандидат фізико-математичних наук
Кашиненко О.М.